



藻類を使ったアンモニア生産の可能性

ーラン藻の遺伝子発現を制御して放出させることに成功ー

【要点】

- ラン藻（シアノバクテリア）の遺伝子発現を調節する新技術開発
- 代謝系酵素の発現調節による有用物質の生産に成功
- 環境負荷のないアンモニア生産に道筋

【概要】

東京工業大学資源化学研究所の久堀徹教授と肥後明佳特任助教（JST・CREST 研究員）の研究チームは、原核光合成生物であるラン藻（用語1）を利用し、産業的に有用な含窒素化合物を生産することに成功した。代謝系酵素の発現調節を可能にするシステムを開発、窒素固定型ラン藻（用語2）の代謝系酵素の発現調節にこのシステムを適用し、ラン藻の体内で生産された含窒素化合物を効率よく細胞外に放出させた。

この技術を発展させることで、今後、地球環境に負荷をかけずにアンモニアなどの有用含窒素化合物を生産するシステムが確立できれば、ラン藻の応用範囲を大きく広げることになる。

研究成果は12月18日発行の日本植物生理学会機関誌「プラントアンドセルフィジオロジー (Plant and Cell Physiology)」電子版に掲載された。

●研究の背景と経緯

二酸化炭素をはじめとする温室効果ガスによる温暖化が地球規模の環境問題となり、人間の活動によって大気中に放出される二酸化炭素量の削減は人類共通の喫緊（きっきん）の課題である。この問題を解決するために、光合成生物による油などの有用化合物生産が注目を集めている。サトウキビやトウモロコシなど緑色植物を利用したバイオエタノール生産は既に実用化されているが、その耕作規模が大きいため食糧生産に必要な作物の耕作との競合が問題視されている。

一方、微細藻類（用語3）は水系で繁殖するため、基本的に食糧生産とは競合せず、増殖した藻類の取扱いが容易であるため、注目を集めている。すでに、一部の単細胞緑藻では、燃料生産の実用化を目指した大規模培養も試みられている。

微細藻類の一種、光合成原核生物であるラン藻は、緑色植物がもつ光合成を行う細胞内小器官（葉緑体）の起源となった生物といわれ、物質生産に適した微細藻類として注目されている。

ラン藻は光合成によって大気中の二酸化炭素から糖を生産するが、大気中の窒素を取り込み窒素化合物に変換する種もいる。産業界で重要な窒素化合物はアンモニアであり、全世界では年間 1 億 6 千万トン生産されている。この生産には水素を大量に必要とし、水素は化石燃料から作られている。そこで、久堀教授らは窒素固定型のラン藻の能力を利用して化石燃料に依存しない含窒素化合物の生産を目指して研究を行ってきた。

●研究成果

ラン藻を活用して有用物質を生産するためには、代謝系を目的の物質生産に適するように改変する必要がある。ところが、これまでラン藻では遺伝子発現制御技術、とりわけ遺伝子発現を抑制する技術の開発があまり進んでいなかった。このため、久堀教授らは代謝経路に関わる酵素の遺伝子発現を人為的に制御する技術をまず開発した。

今回、研究のモデル生物として用いた窒素固定型の糸状性ラン藻 *Anabaena* sp. PCC7120 (以下、アナベナ) (図写真) は数珠状に増殖するが、窒素源の乏しい条件で培養すると数珠状の細胞のところどころにヘテロシスト (用語 4) と呼ばれる特殊な細胞が形成される。この細胞で大気中の窒素を直接アンモニアに変換する窒素固定反応が行われる。ほとんどの生物は大気中の窒素を窒素源として利用できないので、この機能は極めて重要である。

固定されたアンモニアはその後、アミノ酸などに変換されて細胞内で利用される。そこで肥後特任助教は、アナベナに利用可能な遺伝子発現制御システムを開発し、窒素同化の代謝系酵素の発現を制御することで、アナベナが生産する窒素化合物を細胞外に放出させるシステムを構築した。

まず、すでに様々な生物で遺伝子発現制御に用いられている転写 (用語 5) 抑制因子 TetR (抗生物質であるテトラサイクリン (用語 6) でその機能を制御することができる (図中①)) を利用して、遺伝子発現制御システムを構築した。

この方法を特定の酵素の発現を抑制できるアンチセンス RNA (用語 7) (図中②) の発現制御に利用して、微量のテトラサイクリンを用いて特定の酵素遺伝子の発現を制御できるシステムを構築した。実際に、この方法でラン藻の生育に必須な窒素同化の鍵酵素であるグルタミン合成酵素 (用語 8) 遺伝子の発現を抑制したところ、窒素固定条件下で含窒素化合物が生産され、効率よく培地中に放出される (図中③) ことを確認した。

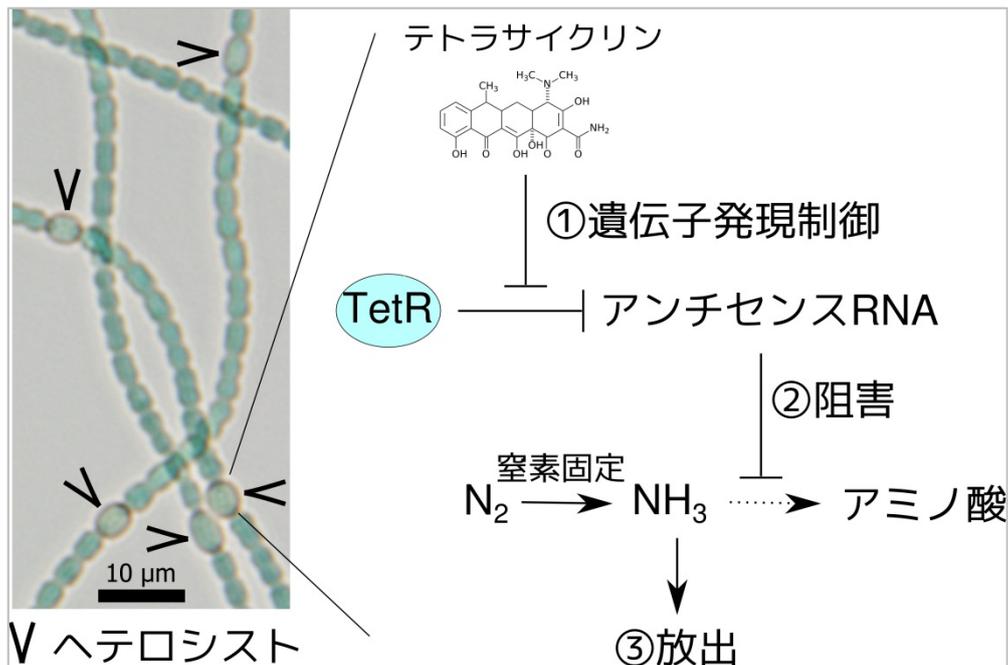


図 アナベナのヘテロシストと遺伝子発現調節システム

ヘテロシストは矢じりで示した丸い細胞である。図中のアンチセンス RNA の発現は TetR 転写抑制因子により抑制されているが、テトラサイクリンを結合するとその抑制が解除される。その結果、発現するアンチセンス RNA が目的の酵素の発現を抑制することにより窒素固定経路のアミノ酸への流れが阻害され、余分な窒素化合物が細胞外に放出される。

●今後の展開

今回の研究により、アナベナの代謝経路を目的に合わせて改変する技術を確立することができた。また、実際にこの技術を利用して、アナベナが大気から取り込んだ窒素をアンモニアとして培地中に放出させることにも成功した。この技術を発展させることで、今後、地球環境に負荷をかけないラン藻を用いた有用含窒素化合物生産システムの構築にも道を拓くものと期待される。

本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）の戦略的創造研究推進事業チーム型研究（CREST）「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」研究領域（研究総括：松永 是 東京農工大学・学長）の支援を受けて実施した。

【用語説明】

- (1) **ラン藻**（シアノバクテリア）：光合成を行う原核光合成生物で細菌の一種。光合成を行うチラコイド膜という膜構造を細胞内に持つ。原始の時代に真核生物に食べられて細胞内共生したことにより、緑色植物の葉緑体の起源となった生物と考えられている。
- (2) **窒素固定型ラン藻**：細胞内にニトロゲナーゼという酵素を持ち、大気中の窒素からアンモニアを直接生産することのできる機能をもったラン藻。
- (3) **微細藻類**：ラン藻のような原核光合成生物から緑藻など真核光合成生物まで、主に単細胞の藻類の総称。物質生産に利用できる生物として注目されている。

- (4) **ヘテロシスト**：異型細胞とも呼ばれ、厚い細胞壁に覆われている。ヘテロシストに存在するニトロゲナーゼは酸素が存在すると簡単に壊れてしまうため、ヘテロシスト内は嫌氣的(酸素のない状態)に保たなければならない。そのために、ヘテロシスト内の光合成装置は酸素発生を行う部分を欠いている。
- (5) **転写**：遺伝子発現では、DNAに保存されている遺伝子情報が、まずRNAに写し取られ(転写という)、このRNAの情報をもとにアミノ酸が数珠状につながってタンパク質が合成される(翻訳という)。
- (6) **テトラサイクリン**：放線菌が作る抗生物質のひとつで、微生物のタンパク質合成を阻害する。このため、細菌感染症の治療薬として用いられているが、近年、耐性菌(テトラサイクリンが効かない菌)が増えている。
- (7) **アンチセンス RNA**：特定のRNAと相補的な配列を持ったRNAで、特定のRNAに結合することで、特定のRNAが持っている情報がタンパク質に翻訳されるのを抑制する。
- (8) **グルタミン合成酵素**：アンモニアとグルタミン酸からグルタミンを合成する酵素。グルタミンは細胞内で様々なアミノ酸の原料として使われている。

【論文情報】

論文名：Efficient gene induction and endogenous gene repression systems for the filamentous cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120

著者：Akiyoshi Higo, Atsuko Isu, Yuki Fukaya, Toru Hisabori

掲載誌：*Plant and Cell Physiology*

DOI: 10.1093/pcp/pcv202

【問い合わせ先】

東京工業大学 資源化学研究所附属資源循環研究施設教授 久堀 徹

Email: thisabor@res.titech.ac.jp

東京工業大学 資源化学研究所附属資源循環研究施設 特任助教 肥後 明佳

Email: higo.a.ab@m.titech.ac.jp

TEL: 045-924-5234 FAX: 045-924-5268

【取材申し込み先】

東京工業大学 広報センター

Email: media@jim.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2975 FAX: 03-5734-3661